

DERWENT-ACC-NO: 1989-110417

DERWENT-WEEK: 198915

COPYRIGHT 1999 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Gel-type anion exchange resin of acrylic polymer - bio-polymer e.g. poly:peptide(s) or protein(s) in ion exchange chromatography

INVENTOR-NAME:

PRIORITY-DATA: 1987JP-0212200 (August 26, 1987)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
JP 01056149 A	March 3, 1989	N/A	005	N/A

INT-CL (IPC): B01J041/14; C08F008/32

ABSTRACTED-PUB-NO: JP01056149A

BASIC-ABSTRACT: A new anion exchange resin of acrylic polymer gel having 50-90

% crosslinking deg., 1-20 microns particle size, and 0.05-0.5 meq/g ion exchanging capacity, is claimed. The anion exchange resin comprises spherical particles made of a copolymer prepd. from 20-40 pts. wt. of glycidylmethacrylate and 60-80 pts. wt. of ethyleneglycol dimethacrylate.

USE/ADVANTAGE - Used to separate trace amt. of biopolymers-like polynucleotides, polypeptides or proteins in the ion exchange chromatography.

In an example, 50 g copolymer of glycerin dimethacrylate and glycerin monomethacrylate having 70 % crosslinking deg. and 8-12 micron particle size were immersed in 100 ml of 5N-NaOH water soln.. The mixt. was stirred by ultrasonic agitator at room temp. for 60 min.; 143 g of 51 % beta-diethylaminoethylchloride HCl water soln. were added to the mixt., which was further stirred at 50 deg. C for 5 hrs.. The reaction mixt. was filtered off, washed and desalinated with water, 100 ml of 1N-HCl, and sufficient amt. of water; an anion exchange resin having diethylaminoethyl groups was obtd., which had 0.1 meq/g ion exchanging capacity.

## ⑫ 公開特許公報(A)

昭64-56149

⑮ Int.Cl.<sup>4</sup>B 01 J 41/14  
C 08 F 8/32

識別記号

MHL

庁内整理番号

Z-8017-4G  
7311-4J

⑬ 公開 昭和64年(1989)3月3日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑭ 発明の名称 陰イオン交換樹脂

⑰ 特 願 昭62-212200

⑱ 出 願 昭62(1987)8月26日

⑲ 発 明 者 草 野 裕 志 神奈川県横浜市緑区鴨志田町1000番地 三菱化成工業株式  
会社総合研究所内⑲ 発 明 者 木 庭 秀 明 神奈川県横浜市緑区鴨志田町1000番地 三菱化成工業株式  
会社総合研究所内⑲ 発 明 者 志 村 明 弘 神奈川県横浜市緑区鴨志田町1000番地 三菱化成工業株式  
会社総合研究所内

⑳ 出 願 人 三菱化成株式会社 東京都千代田区丸の内2丁目5番2号

㉑ 代 理 人 弁理士 長谷川 一 外1名

## 明 細 書

## (従来技術)

## 1. 発明の名称

陰イオン交換樹脂

## 2. 特許請求の範囲

- (1) 架橋度が50~90%、粒子直径が1~20 $\mu$ m、そして交換容量が0.05~0.5 meq/gの範囲のアクリル系ゲル型陰イオン交換樹脂。

- (2) 特許請求の範囲第1項記載の陰イオン交換樹脂において、陰イオン交換樹脂の母体が、グリンジルメタクリレート20~40重量部、エチレングリコールジメタクリレート60~80重量部を原料とする共重合体で得られた球状粒子であることを特徴とする陰イオン交換樹脂。

## 3. 発明の詳細な説明

## (産業上の利用分野)

本発明は、アクリル系ゲル型陰イオン交換樹脂に関するものである。

イオン交換クロマトグラフィーによる生体高分子分離用分離剤として、多孔質シリカゲルにイオン交換基を付与したもの(特開昭55-66756)、多孔質アクリル酸又はメタアクリル酸エステルにイオン交換基を付与したもの(特公昭58-5202)等が知られている。

## (発明が解決しようとする問題点)

従来の分離剤は、多孔質な分離剤であるために、分取、精製を目的とした場合、非常に有用であるが、分析を目的とした場合、内部拡散が影響し、分離性が悪くなる。更に、微量成分を高い分離能で分析するのは困難である。

本発明は、生体高分子の微量分析に好適な分離剤を提供することを目的とする。

## (問題点を解決するための手段)

すなわち、本発明は、架橋度が50~90%、粒子直径が1~20 $\mu$ m、そして交換容量が0.05~0.5 meq/gの範囲のアクリル系ゲル型陰イオン交換樹脂を要旨とする。

本発明ゲル型陰イオン交換樹脂において使用される陰イオン交換基の種類としては、一級、二級、三級および四級のアミノ基を挙げることができ、特に三級および四級のアミノ基が好ましく使用される。

本発明のゲル型陰イオン交換樹脂の製造方法としては、アミノ基を有するビニル単量体と架橋剤とを常法により共重合するか、若しくは、アミノ基を導入可能な官能基を有するビニル単量体と架橋剤とを常法により共重合し、得られた共重合体にアミノ基を導入することにより製造することができる。

重合方法としては、懸濁重合法を好ましく採用することができる。

後者の方法の一例として、まず、ヒドロキシル基を有する架橋共重合体を製造する方法について述べ、次いで、ヒドロキシル基を有する架橋共重合体にアミノ基を導入する方法について詳細に説明する。

ヒドロキシル基を有するビニル単量体として

橋剤重量)としては、50~90%、好ましくは60~80%の範囲を挙げることができる。

架橋度がこの範囲より低い場合には、分離剤の硬さが十分でない為に、カラム充填の際圧密化が起り、該カラムを使用する際に送液圧が高くなりすぎて実用的ではない。また、架橋度がこの範囲より高い場合には、交換基を0.05 meq/g以上導入することが極めて困難であり、得られた分離剤の性能も極めて低いものとなる。

粒径は任意のものが用いられるが、微量分析用イオン交換クロマトグラフィー担体としては、粒子直径が1 μm~20 μmの範囲で粒径のそろったものが良い。

一般に、粒径は小さい方がカラム段数が高い傾向にある。また本発明のゲル型樹脂の場合、その粒子表面の官能基のみが分離に寄与すると考えられるので、その点でも粒径の小さい方が好ましい。しかし、余り粒径が小さい場合には、実際に使用する際に送液圧力が高くなりすぎるという問題がある。

は、ヒドロキシエチルメタクリレート、グリセリンモノメタクリレート等が用いられる。

ヒドロキシル基に変えることのできるビニル単量体としては、酢酸ビニル、グリシジルメタクリレート等がある。

架橋剤としては、エチレングリコールジメタクリレート、ジエチレングリコールジメタクリレート、トリエチレングリコールジメタクリレート、トリメチロールプロパントリメタクリレート、グリセリンジメタクリレート等のポリビニル脂肪族単量体を挙げることができる。

他の架橋剤としては、トリアリルイソシアヌレートのようなヘテロ環を有するポリアリル単量体を挙げることができる。

上記架橋共重合体の具体例としては、架橋ポリヒドロキシエチルメタクリレート、架橋ポリビニルアルコール、架橋ポリグリセリンモノメタクリレートまたはその誘導体等を挙げることができる。

これら共重合体の架橋度(全モノマー中の架

前記のヒドロキシル基を有する架橋共重合体粒子に陰イオン交換基を導入する方法としては、アルカリ条件下でハロゲン化トリアルキルアミン塩を反応させる方法、または、ヒドロキシル基をマーハローマーヒドロキシプロピル基で置換したのち、アミノ化処理する方法等を挙げることができる。

導入された官能基の量、即ち交換容量の測定は実施例中の測定方法に従い測定するが0.05~0.5 meq/gの範囲にあることが好ましく、この範囲以上でも以下でも優れた分離性能を得ることはできない。

#### 実施例

以上本発明の方法によって製造されるアクリル系ゲル型陰イオン交換樹脂は、生体高分子(ポリヌクレオチド、ポリペプチド、蛋白質)の微量分析用に適したイオン交換クロマトグラフィー用担体である。

(実施例)

以下、本発明を実施例によって更に詳細に説

明する。

なお、実施例中の交換容量の測定は、次の方法により測定した。

#### 交換容量の測定方法

製造したゲル型陰イオン交換樹脂の湿潤品(2g以下)を三角フラスコに入れ、1N-NaOH 20mlを加え室温にて、30分間振盪を行う。これを通過した後、pH10のNaOH水溶液で十分洗浄する。

次に、分離剤をビーカーに入れ、1%NaCl水溶液30mlを入れ、攪拌しながら、 $5 \times 10^{-2}$  N-HCl水溶液を用い、滴下速度20μL/secで自動滴定装置(OT-05 三菱化成工業株式会社製造)にて、滴定曲線を作成する。次いで、分離剤全量を通過し、水洗した後、温度80℃で3時間乾燥し、正確に秤量する。

横軸に滴下量、縦軸にpHで表わされる滴定曲線より、pH8(第1変曲点)までの $5 \times 10^{-2}$  N-HCl水溶液の滴下量をMml、ファクターをf、乾燥分離剤量をA<sub>g</sub>とし、分離剤の交換容

量を次式により求める。

$$\text{交換容量 (meq/g)} = \frac{M \times 0.05 \times f}{A}$$

#### 実施例1

常法の懸濁重合法にて、製造したグリセリンジメタクリレートとグリセリンモノメタクリレートとの共重合体(架橋度70%、粒子径8~12μm)50gを5N-NaOH水溶液100ml中に投入し、室温にて、約60分間超音波分散および攪拌した。次いでこれに5%β-ジエチルアミノエチルクロライド塩酸塩水溶液14.3gを加え、50℃で5時間攪拌した。

反応物を通過し、脱塩水にて洗浄し、次いで1N-HCl水溶液100mlで洗浄後、十分水洗し、ジエチルアミノエチル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂を得た。

この樹脂の交換容量を測定したところ、0.1 meq/gであった。

#### 実施例2

##### (a) ヒドロキシル基への変換

常法の懸濁重合法にて製造したエチレングリコールジメタクリレートとグリシジルメタクリレートとの共重合体(架橋度70%、粒子径4~5μm)50gを2N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>水溶液250ml中に投入し、攪拌下50℃で5時間反応させ、グリシジル基の開環を行った。

反応物を通過し、脱塩水にて洗浄を行い、ヒドロキシル基をもつ架橋ポリグリセリンメタクリレート樹脂を得た。

##### (b) 官能基の導入

(a)で得られた樹脂10g(乾燥品)を5N-NaOH水溶液20ml中に入れ、室温にて超音波分散および攪拌しながら、約60分間処理した後、5%β-ジエチルアミノエチルクロライド塩酸塩水溶液28.7gを加え、攪拌下50℃で5時間反応した。反応物を通過し、脱塩水洗浄次いで1N-HCl水溶液20ml洗浄後、十分水洗し、ジエチルアミノエチ

ル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂を得た。

本実施例で製造したイオン交換樹脂の交換容量は0.14 meq/gであった。

#### (応用例1)

実施例2で製造した分離剤を、ミオグロビン、卵アルブミン、トリブシンインヒビターの混合蛋白質のグラジエント溶離法によるイオン交換クロマトグラフィーを行った。

クロマトグラムを第1図に示した。カラム段数、分離度共に良好なクロマトグラムが得られた。

なお、グラジエント溶離法によるイオン交換クロマトグラフィー用装置は、島津LC6Aシステムを用いた。

溶離液Aには、14mmol-トリスヒドロキシメチルアミノメタン・HClバッファー(pH8.0)、溶離液Bには、溶離液Aに0.5molの塩化ナトリウムを加え使用した。

溶離液AからBへのグラジエントとして、

20分間の直線グラジエントを行い分離した。分離液の流速は、1 ml/minであった。検出は紫外線 (UV 280 nm) により、吸光度測定を行った。

#### 実施例3

実施例2(a)のエチレングリコールジメタクリレートとグリシジルメタクリレートとの共重合体の架橋度60%以外は、実施例2(a)および(b)に従い、ジエチルアミノエチル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂を得た。

得られた分離剤の交換容量は0.3 meq/gであった。応用例1に従い分離剤の評価を行ったところ、カラム段数、分離度共に、応用例1と同等な結果であった。

#### 実施例4

実施例2(a)のエチレングリコールジメタクリレートとグリシジルメタクリレートとの共重合体の架橋度80%以外は、実施例2(a)および(b)に従い、ジエチルアミノエチル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂を得た。

リメチルアミン水溶液50 ml中に入れ、撹拌しながら50℃で5時間反応した。冷却後、反応物を分別し、水洗した後、1N-HCl水溶液100 mlで洗浄し、十分水洗してトリメチルアミノ-2-ヒドロキシプロピル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂を得た。交換容量は0.5 meq/gであった。

このトリメチルアミノ-2-ヒドロキシプロピル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂をクロマト評価したところ、カラム段数、分離度共に、ジエチルアミノエチル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂(応用例1)と同等であった。

#### 実施例5

常法の懸濁重合法にて製造した、エチレングリコールジメタクリレートと2-ヒドロキシエチルメタクリレートとの共重合体(架橋度70%、粒子径8~12 μm)50 gを、5N-NaOH水溶液200 ml中に入れ、約60分間、室温にて超音波分散および撹拌した。次いで、これに

得られた分離剤の交換容量は、0.12 meq/gであった。このもののクロマト評価を行ったところ、カラム段数、分離度共に、応用例1と同等な結果であった。

#### 実施例5

(a) 3-ハロー-2-ヒドロキシプロピル基の導入

実施例2(a)で得られた反応物10 g(乾燥品)を0.2 mmol/mlエピクロロヒドリン・テトラヒドロフラン溶液50 ml中に入れ、次いで97% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>をポリマー1 g当り、0.2 mmolに加え、撹拌下70℃で2時間反応した。反応物を伊過・水洗し、次にメタノール洗浄した後、50℃3時間乾燥した。

このものの3-ハロー-2-ヒドロキシプロピル基導入量を元素分析により塩素原子の量を測定したところ、0.5 mmol/gであった。

(b) 3-ハロー-2-ヒドロキシプロピル基のアミノ化

(a)で得られた反応物10 gを1 mmol/mlト

74% β-ジエチルアミノエチルクロライド塩酸塩19.6 gを加え、30℃で6時間撹拌した。

次いで、伊過し、脱塩水洗浄し、1N-HCl水溶液100 ml洗浄後、十分水洗し、ジエチルアミノエチル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂を得た。交換容量は、0.1 meq/gであった。

#### 比較例1

実施例2(a)で得られた架橋ポリグリセリンメタクリレート樹脂10 g(乾燥品)を、2N-NaOH 20 ml中に入れ、60分間、室温にて超音波分散および撹拌した。次いでこれに8% β-ジエチルアミノエチルクロライド塩酸塩水溶液10.9 gを加え、30℃で3時間撹拌した。次いで伊過・脱塩水洗浄し、更に1N-HCl水溶液100 mlで洗浄後、十分洗浄し、ジエチルアミノエチル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂を得た。

交換容量は、0.03 meq/gであった。

ジエチルアミノエチル基を官能基とするアク

リル系陰イオン交換樹脂のクロマト評価を行ったところ、交換容量が少ない為、良好なクロマトグラムが得られなかった。

#### 比較例 2

三菱化成工業株式会社より製造・販売されている、生体高分子分離用アクリル系多孔質陰イオン交換樹脂、商品名 MCI GEL CQA-3/B (官能基 ジエチルアミノ基、 $0.4 \text{ meq/g}$ 、細孔径  $1000 \text{ \AA}$ ) のバックドカラム (内径  $7.5 \text{ mm}$ 、長さ  $75 \text{ mm}$ ) を、応用例 1 と同様に溶離試験を行った。ただし、グラジエント時間を  $30 \text{ 分}$  とした。クロマトグラムを第 2 図に示す。

得られた各成分のメインピークの巾が広く、サブピークの分離も良好でなかった。

なお、グラジエント時間は、溶出時間を短くするが、各成分の分離性の向上には、寄与するものではない。

#### (発明の効果)

本発明のアクリル系ゲル型陰イオン交換樹脂は、特定の架橋度、粒子直径および交換容量を

有するため、グラジエント溶離法によるイオン交換クロマトグラフィーにおいて、生体高分子 (蛋白質) の高感度、高分離能の分離分析用として有用である。

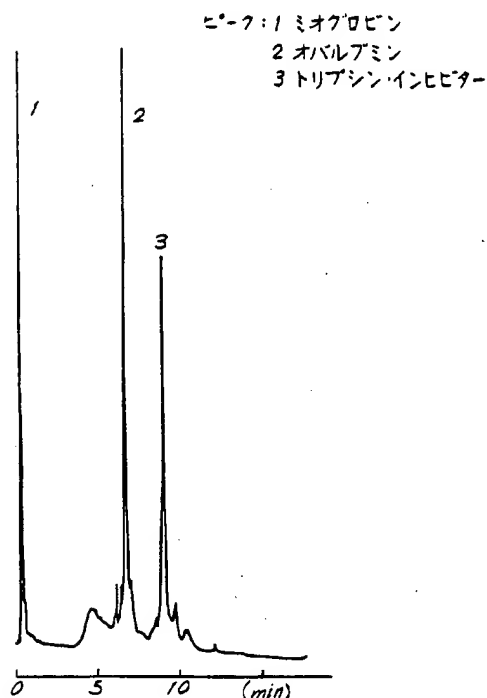
#### 4 図面の簡単な説明

第 1 図は、実施例 2 で製造した本発明のアクリル系ゲル型陰イオン交換樹脂を、応用例 1 に従い測定して得たクロマトグラムである。

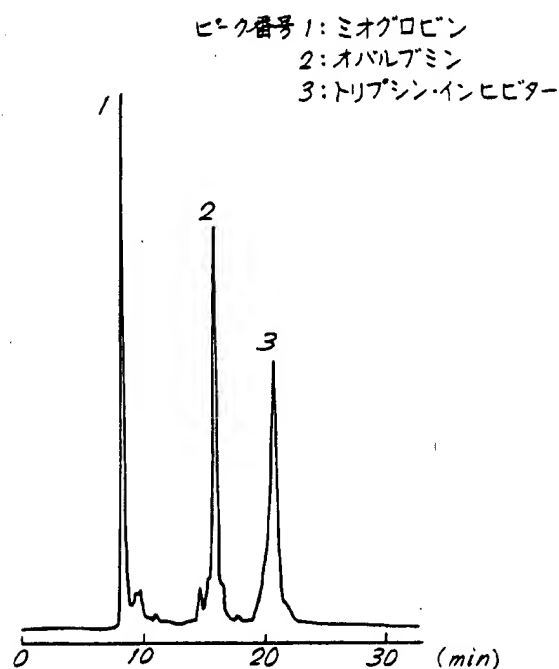
第 2 図は、比較例 2 のアクリル系多孔質陰イオン交換樹脂を、応用例 1 に従い測定して得たクロマトグラムである。

出 願 人 三菱化成工業株式会社  
代 理 人 弁理士 長谷川 一  
(ほか 1 名)

第 1 図



第 2 図



# Request Form for Translation

Translation Branch  
The world of foreign prior art to you.

Translations

U. S. Serial No. : 09/871,723

Requester's Name: DON WILSON

Phone No. : 308-2398

Fax No. : 703-872-9029

Office Location: CP3/EE-06

Art Unit/Org. : 1713

Group Director: STONE

Is this for Board of Patent Appeals? NO

Date of Request: 11/12/02

Date Needed By: 1/12/03

(Please do not write AS-AP-indicate a specific date)

PTO 2003-559

S.T.I.C. Translations Branch

Phone: 308-0881  
Fax: 308-0989  
Location: Crystal Plaza 3/4  
Room 2C01

SPE Signature Required for RUSH:

## Document Identification (Select One):

(Note: Please attach a complete, legible copy of the document to be translated to this form)\*\*

1. ☒ Patent Document No. 64-56149  
Language JP  
Country Code JP  
Publication Date 3/89  
No. of Pages (filled by STIC)

2. ☐ Other Author \_\_\_\_\_  
Language \_\_\_\_\_  
Country \_\_\_\_\_

3. ☐ Other Type of Document \_\_\_\_\_  
Country \_\_\_\_\_  
Language \_\_\_\_\_

## Document Delivery (Select Preference):

☒ Delivery to Exmr. Office/Mailbox Date: 11-27-02 (STIC Only)

☐ Call for Pick-up Date: \_\_\_\_\_ (STIC Only)

To assist us in providing the most cost effective service, please answer these questions:

Will you accept an English Language Equivalent?  
Y (Yes/No)

Will you accept an English abstract?  
NO (Yes/No)

Would you like a consultation with a translator to review the document prior to having a complete written translation?  
NO (Yes/No)

Check here if Machine Translation is not acceptable:  
(It is the default for Japanese Patents, '93 and onwards with avg. 5 day turnaround after receipt)

STIC USE ONLY KKI

## Copy/Search

Processor: ML  
Date assigned: 11-12  
Date filled: 11-12  
Equivalent found: (Yes/No)

Doc. No.: \_\_\_\_\_  
Country: \_\_\_\_\_

Remarks: \_\_\_\_\_

## Translation

Date logged in: 11-12-02  
PTO estimated words: 3328  
Number of pages: 9

In-House Translation Available: \_\_\_\_\_

In-House: \_\_\_\_\_  
Translator: \_\_\_\_\_  
Assigned: \_\_\_\_\_  
Returned: \_\_\_\_\_

Contractor: \_\_\_\_\_  
Name: MC  
Priority: E  
Sent: 11-13-02  
Returned: 11-27-02

PTO 03-559

Japanese Kokai Patent Application  
No. Sho 64[1989]-56149

ANIONIC EXCHANGE RESIN

Hiroshi Kusano et al.

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE  
WASHINGTON, D.C. NOVEMBER 2002  
TRANSLATED BY THE RALPH MCELROY TRANSLATION COMPANY



JAPANESE PATENT OFFICE  
PATENT JOURNAL (A)  
KOKAI PATENT APPLICATION NO. SHO 64[1989]-56149

Int. Cl. <sup>4</sup> :	B 01 J	41/14
	C 08 F	8/32
Sequence Nos. for Office Use:	Z-8017-4G	
	7311-4J	
Filing No.:	Sho 62[1987]-212200	
Filing Date:	August 26, 1987	
Publication Date:	March 3, 1989	
No. of Inventions:	1 (Total of 5 pages)	
Examination Request:	Not filed	

ANIONIC EXCHANGE RESIN

[In'ion kohkanjushi]

Inventors:	Hiroshi Kusano et al.
Applicant:	Mitsubishi Kasei Co., Ltd.

[There are no amendments to this patent.]

Claims

1. An acrylic based gel type anionic exchange resin having a degree of crosslinking in the range of 50 to 90%, particle diameter in the range of 1 to 20  $\mu\text{m}$ , and exchange capacity in the range of 0.05 to 0.5 meq/g.

2. The anionic exchange resin described in Claim 1, which anionic exchange resin is characterized by the fact that the matrix of the anionic exchange resin comprises spherical particles made of a copolymer raw material composed of 20 to 40 parts by weight of glycidyl methacrylate and 60 to 80 parts by weight of ethylene glycol dimethacrylate.

### Detailed explanation of the invention

#### Industrial application field

The present invention pertains to an acrylic gel type anionic exchange resin.

#### Prior art

As a separator for biopolymer separation based on ion exchange chromatography, a porous silica gel provided with an ion exchange group (Japanese Kokai Patent Application No. Sho 55[1980]-66756), a porous acrylate or methacrylate provided with an ion exchange group (Japanese Kokoku Patent No. Sho 58[1983]-5202), etc. are known.

#### Problems to be solved by the invention

Porous separators are used for separators of the prior art, which are very useful for the purpose of fractioning or purification, but when used for the purpose of analysis, separation performance becomes inferior due to internal diffusion. Furthermore, it is not possible to analyze minor components at a high separation performance.

The objective of the present invention is to produce a separator that can be used effectively for microanalysis of biopolymers.

#### Means to solve the problem

Thus, the present invention is an acrylic based gel type anionic exchange resin having a degree of crosslinking in the range of 50 to 90%, particle diameter in the range of 1 to 20  $\mu\text{m}$ , and exchange capacity in the range of 0.05 to 0.5 meq/g.

For different types of anionic exchange groups used in the gel type anionic exchange resin of the present invention, primary, second, tertiary, and quaternary amino groups can be mentioned, and tertiary and quaternary amino groups are more desirable.

As for the method of manufacturing the gel type anionic exchange resin of the present invention, a method wherein a copolymerization reaction is carried out for a vinyl monomer having an amino group and a crosslinking agent, as normal, or a method where copolymerization is carried out for a vinyl monomer having a functional group to which an amino group can be introduced and a crosslinking agent, as normal, and introducing an amino group to the copolymer produced can be mentioned.

For the polymerization method used in this case, a suspension polymerization reaction method can be used effectively.

As an example of the latter method, first, a method of manufacturing a crosslinked copolymer having a hydroxyl group will be explained, and then, an introduction method of an amino group to the crosslinked copolymer having a hydroxyl group will be explained in detail.

As a vinyl monomer having a hydroxyl group, hydroxyethyl methacrylate, glycerol monomethacrylate, etc. can be mentioned.

For a vinyl monomer that can be converted to having a hydroxyl group, vinyl acetate, glycidyl methacrylate, etc. can be mentioned.

For a crosslinking agent, polyvinyl aliphatic monomers such as ethylene glycol dimethacrylate, diethylene glycol dimethacrylate, triethylene glycol dimethacrylate, trimethylol propane trimethacrylate and glycerol dimethacrylate can be mentioned.

For examples of other crosslinking agents, polyallyl monomers having a hetero ring such as triallyl isocyanurate can be mentioned.

For specific examples of the above-mentioned crosslinked copolymers, crosslinked polyhydroxyethyl methacrylate, crosslinked polyvinyl alcohol, crosslinked polyglycerol monomethacrylate, and derivatives of the same, etc. can be mentioned.

For the degree of crosslinking (weight of crosslinking agent with respect to the total monomer) of the above-mentioned copolymers, a range of 50 to 90%, preferably, 60 to 80% can be mentioned.

When the degree of crosslinking is below the lower limit of the above-mentioned range, hardness of the separator is inadequate, and furthermore, consolidation occurs at the time of column packing, and the liquid feed pressure becomes too high at the time of application of said column; thus, it is not practical. On the other hand, when the degree of crosslinking is higher than the above-mentioned upper limit, introduction of the exchange group at 0.05 meq/g or higher is very difficult, and the performance of the separator produced becomes very poor as well.

The particle diameter is not especially limited, but those having a uniform particle diameter in the range of 1  $\mu\text{m}$  to 20  $\mu\text{m}$  are desirable for an ion exchange chromatography carrier used for microanalysis.

In general, the lower the particle diameter, the higher the column number of rows. Furthermore, in the case of the gel type resin of the present invention, it is hypothesized that only functional groups on the pressure-sensitive surface contribute to the separation, and from this point also, a smaller particle diameter is desirable. However, when the particle diameter is too small, the liquid feed pressure is likely to become too high.

As a method used for introducing the anionic exchange group to the aforementioned crosslinked polymer particle having a hydroxyl group, a method where the reaction is carried out with a halogenated trialkyl amine salt under alkaline conditions, or a method where the hydroxyl group is replaced with a 3-halo-2-hydroxypropyl group and an amination treatment is provided can be mentioned.

The amount of functional group introduced, namely, measurement of the exchange capacity, is done according to the measurement method described in the application examples, and a range of 0.05 to 0.5 meq/g is desirable, and when the value is outside the above-mentioned range, an adequate separation performance cannot be achieved.

An acrylic gel type anionic exchange resin produced by the above-mentioned method of the present invention is a carrier for ion exchange chromatography suitable for microanalysis of biopolymers (polynucleotides, polypeptides, and proteins).

### Application examples

In the following, the present invention is explained in further detail with application examples.

Measurement of the exchange capacity in application examples was done according to the method described below.

A wet cake (2 g or below) of a gel type anionic exchange resin produced was placed in a conical flask, 20 mL of 1N-NaOH were added and shaking was performed for 30 min at room temperature. After filtration was performed, a thorough cleaning was done with an NaOH solution having a pH of 10.

Subsequently, the separator was placed in a beaker, then, 30 mL of 1% NaCl solution were added, and a titration curve was formed with  $5 \times 10^{-2}$  N-HCl solution at a titration rate of 20  $\mu$ L/sec as stirring was provided using an automatic titrator (GT-05, product of Mitsubishi Kasei Co., Ltd.). Furthermore, filtration was done for the entire amount of separator, a water wash was provided, and drying was further done at a temperature of 80°C for 3 h; then, accurate measurement was performed.

Based on the titration curve where the titration amount is shown on the horizontal axis and the pH on the vertical axis, and the titration amount of the  $5 \times 10^{-2}$  N-HCl solution up to pH 8 (first inflection point) as M mL, factor as f, and amount of dried separator as A g, the exchange capacity of the separator was obtained according to the equation shown below.

$$\text{Exchange capacity (meq/g)} = (M \times 0.05 \times f)/A$$

### Application Example 1

50 g of a copolymer of glycerol dimethacrylate and glycerol monomethacrylate (degree of crosslinking 70%, particle diameter 8 to 12  $\mu$ m) produced by a standard suspension polymerization reaction method were poured into 100 mL of 5N-NaOH solution and ultrasonic dispersing and stirring were performed at room temperature for approximately 60 min. Subsequently, 143 g of 51%  $\beta$ -diethylaminoethylchloride hydrochloride solution were added and stirring was performed for 5 h at 50°C.

Furthermore, filtration was performed for the reaction product, washing and desalting were performed, washing was further performed with 100 mL of 1N-HCl solution, and a thorough washing was done with water to produce an acrylic type anionic exchange resin having diethylaminoethyl as the functional group.

The measured exchange capacity of the above-mentioned resin was 0.1 meq/g.

### Application Example 2

#### (a) Conversion to hydroxyl group

50 g of a copolymer of ethylene glycol dimethacrylate and glycidyl methacrylate (degree of crosslinking 70%, particle diameter 4 to 5  $\mu\text{m}$ ) produced by a standard suspension polymerization reaction method were poured into 250 mL of 2N- $\text{H}_2\text{SO}_4$  solution, and a reaction was performed under stirring at a temperature of 50°C for 5 h, so a ring-opening reaction of the glycidyl group was performed.

Furthermore, filtration was performed for the reaction product, cleaning and desalting were performed and production of a crosslinked polyglycerol methacrylate resin having a hydroxyl group was performed.

#### (b) Introduction of functional group

10 g (dried product) of the resin produced in (a) were poured into 20 mL of 5N-NaOH solution, a treatment was performed with ultrasonic dispersing and stirring being done at room temperature for approximately 60 min, and subsequently, 28.7 g of 51%  $\beta$ -diethylaminoethylchloride hydrochloride solution were added and stirring was performed for 5 h at 50°C with a reaction being carried out. Furthermore, filtration was performed for the reaction product, washing and desalting were performed, and washing was further done with 20 mL of 1N-HCl solution; then, a thorough water wash was provided and production of an acrylic type anionic exchange resin having diethylaminoethyl as the functional group was achieved.

The exchange capacity of the ion exchange resin produced in the present application example was 0.14 meq/g.

### Practical Example 1

Ion exchange chromatography was performed with the separator produced in Application Example 2 using mixed proteins of myoglobin, egg albumin, and trypsin inhibitor by means of a gradient elution method.

The chromatogram is shown in Figure 1. A good chromatogram in terms of the column, number of rows and degree of separation was obtained.

In this case, the device used for the ion exchange chromatography was a Shimazu LC6A system.

For eluate A, 14 mmol-tris hydroxy methylaminomethane-HCl buffer (pH 8.0) was used, and for eluate B, 0.5 mol of sodium chloride was added to eluate A and used.

For the gradient from the eluate A to B, a 20 min linear gradient was used, and elution was performed. The flow velocity of the eluate was 1 mL/min. The detection was performed by ultraviolet (UV 280 nm) and absorbency was measured.

### Application Example 3

In Application Example 2(a), the degree of crosslinking of the copolymer of ethylene glycol dimethacrylate and glycidyl methacrylate was changed to 60%, and production of an acrylic type anionic exchange resin having a diethylaminoethyl group as a functional group was performed as in the case of Application Example 2(a) and (b).

The exchange capacity of the separator produced was 0.3 meq/g. When an evaluation was done for the separator according to Practical Example 1, the same good results described in Practical Example 1 were achieved in the column, number of rows and degree of separation in this case as well.

### Application Example 4

In Application Example 2(a), the degree of crosslinking of the copolymer of ethylene glycol dimethacrylate and glycidyl methacrylate was changed to 80%, and production of an acrylic type anionic exchange resin having a diethylaminoethyl group as a functional group was carried out as in the case of Application Example 2(a) and (b).

The exchange capacity of the separator produced was 0.12 meq/g. When an evaluation based on chromatography was performed, the same good results described in Practical Example 1 were achieved in the column, number of rows and degree of separation in this case as well.

### Application Example 5

#### (a) Introduction of a 3-halo-2-hydroxypropyl group

10 g (dried material) of a reaction product produced in Application Example 2(a) were placed in 50 mL of 0.2 mmol/mL epichlorohydrin-tetrahydrofuran solution, then, 0.2 mmol of 97% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> was added per 1 g of polymer, and a reaction was performed at 70°C for 2 h under stirring. Filtration and water wash were performed for the reaction product, then, cleaning was performed in methanol, and finally, drying was done at 50°C for 3 h.

When a measurement was performed for chlorine atoms of the 3-halo-2-hydroxypropyl group according to elemental analysis, 0.5 mmol/g was obtained.

(b) Amination treatment of 3-halo-2-hydroxypropyl group

10 g of the reaction product produced in (a) were poured into 50 mL of 1 mmol/mL trimethylamine solution, and a reaction was carried out at 50°C for 5 h while stirring was being performed. After cooling, filtration was performed for the reaction product, a water wash was performed, washing was performed with 100 mL of 1N-HCl solution, and a thorough water wash was provided to produce an acrylic type anionic exchange resin having trimethylamino-2-hydroxypropyl as the functional group. The exchange capacity in this case was 0.5 meq/g.

When an evaluation was done for the above-mentioned acrylic type anionic exchange resin having trimethylamino-2-hydroxypropyl as the functional group by means of chromatography, the same good results as an acrylic type anionic exchange resin having diethylaminoethyl as the functional group (Practical Example 1) were achieved in the column, number of rows and degree of separation in this case as well.

Application Example 6

50 g of a copolymer of ethylene glycol dimethacrylate and 2-hydroxyethyl methacrylate (degree of crosslinking 70%, particle diameter 8 to 12  $\mu\text{m}$ ) produced by a standard suspension polymerization reaction method were poured into 200 mL of 5N-NaOH solution, and ultrasonic dispersing and stirring were done at room temperature for approximately 60 min. Subsequently, 196 g of 74%  $\beta$ -diethylaminoethylchloride hydrochloride were added and stirring was performed for 6 h at 30°C with reaction achieved.

Furthermore, filtration was performed and washing and desalting were carried out; then, further washing was done with 100 mL of 1N-HCl solution; then, a thorough water wash was provided and production of an acrylic type anionic exchange resin having diethylaminoethyl as the functional group was achieved. The exchange capacity in this case was 0.1 meq/g.

Comparative Example 1

10 g (dried material) of the crosslinked polyglycerol methacrylate resin produced in Application Example 2(a) were placed in 20 mL of 2N-NaOH, and ultrasonic dispersing and stirring were done at room temperature for approximately 60 min. Subsequently, 10.9 g of 8%  $\beta$ -diethylaminoethylchloride hydrochloride aqueous solution were added and stirring was performed for 3 h at 30°C. Furthermore, filtration was performed and washing and desalting were performed; then, further washing was done with 100 mL of 1N-HCl solution; then, a thorough water wash was performed and production of an acrylic type anionic exchange resin having diethylaminoethyl as the functional group was achieved.

The exchange capacity in this case was 0.03 meq/g.

When an evaluation was done for the acrylic type anionic exchange resin having diethylaminoethyl as the functional group by chromatography, an adequate chromatogram was not obtained due to the low exchange capacity.

#### Comparative Example 2

An elution test was performed for a packed column (inner diameter of 7.5 mm and length of 75 mm) of an acrylic type porous anionic exchange resin for biopolymers produced and marketed by Mitsubishi Kasei Co., Ltd. known by the product name MCI GEL CQA-31B (functional group is a diethylamino group, 0.4 meq/g, pore diameter 1000 Å) as in the case of Practical Example 1. In this case, the gradient time was 30 min. The chromatogram obtained is shown in Figure 2.

In this case, the width of the main peak of each component obtained is wide, and separation of sub-peaks was poor.

It should be noted that the gradient time reduces the elution time, but it does not contribute to an increase in separation of each component.

#### Effect of the invention

The acrylic gel type anionic exchange resin of the present invention has a specific degree of crosslinking, particle diameter, and exchange capacity, and can be effectively used for highly sensitive and high separation analysis of biopolymers (proteins) in ion exchange chromatography based on the gradient separation method.

#### Brief description of the figures

Figure 1 is a chromatogram of the acrylic gel type anionic exchange resin produced in Application Example 2 according to Practical Example 1.

Figure 2 is a chromatogram of the acrylic type porous anionic exchange resin produced in Comparative Example 2 according to Practical Example 1.



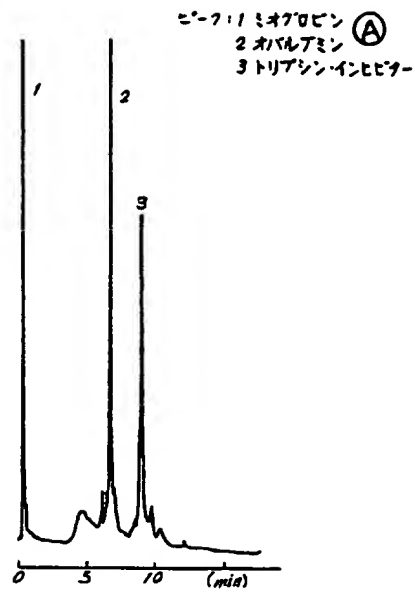


Figure 1

Key: A      Peak: 1 Myoglobin  
              2 Ovalbumin  
              3 Trypsin inhibitor

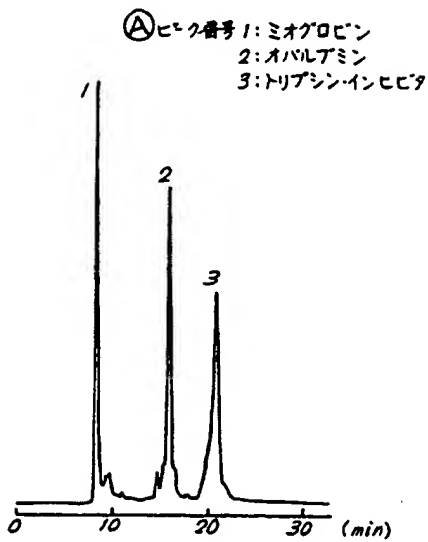


Figure 2

Key: A      Peak Number  
              1: Myoglobin  
              2: Ovalbumin  
              3: Trypsin inhibitor

## ⑫ 公開特許公報(A)

昭64-56149

⑤ Int. Cl.<sup>4</sup>B 01 J 41/14  
C 08 F 8/32

識別記号

MHL

庁内整理番号

Z-8017-4G  
7311-4J

④ 公開 昭和64年(1989)3月3日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑭ 発明の名称 陰イオン交換樹脂

⑯ 特 願 昭62-212200

⑰ 出 願 昭62(1987)8月26日

⑱ 発 明 者 草 野 裕 志 神奈川県横浜市緑区鴨志田町1000番地 三菱化成工業株式  
会社総合研究所内⑲ 発 明 者 木 庭 秀 明 神奈川県横浜市緑区鴨志田町1000番地 三菱化成工業株式  
会社総合研究所内⑲ 発 明 者 志 村 明 弘 神奈川県横浜市緑区鴨志田町1000番地 三菱化成工業株式  
会社総合研究所内

⑳ 出 願 人 三菱化成株式会社 東京都千代田区丸の内2丁目5番2号

㉑ 代 理 人 弁理士 長谷川 一 外1名

## 明 細 書

## 〔従来の技術〕

## 1. 発明の名称

陰イオン交換樹脂

## 2. 特許請求の範囲

- (1) 架橋度が50～90%、粒子直径が1～20 $\mu$ m、そして交換容量が0.05～0.5 meq/gの範囲のアクリル系ゲル型陰イオン交換樹脂。

- (2) 特許請求の範囲第1項記載の陰イオン交換樹脂において、陰イオン交換樹脂の母体が、グリンジルメタクリレート20～40重量部、エチレングリコールジメタクリレート60～80重量部を原料とする共重合体で得られた球状粒子であることを特徴とする陰イオン交換樹脂。

## 3. 発明の詳細な説明

## 〔産業上の利用分野〕

本発明は、アクリル系ゲル型陰イオン交換樹脂に関するものである。

イオン交換クロマトグラフィーによる生体高分子分離用分離剤として、多孔質シリカゲルにイオン交換基を付与したもの(特開昭55-66756)、多孔質アクリル酸又はメタアクリル酸エステルにイオン交換基を付与したもの(特公昭58-5202)等が知られている。

## 〔発明が解決しようとする問題点〕

従来の分離剤は、多孔質な分離剤であるために、分取、精製を目的とした場合、非常に有用であるが、分析を目的とした場合、内部拡散が影響し、分離性が悪くなる。更に、微量成分を高い分離能で分析するのは困難である。

本発明は、生体高分子の微量分析に好適な分離剤を提供することを目的とする。

## 〔問題点を解決するための手段〕

すなわち、本発明は、架橋度が50～90%、粒子直径が1～20 $\mu$ m、そして交換容量が0.05～0.5 meq/gの範囲のアクリル系ゲル型陰イオン交換樹脂を要旨とする。

本発明ゲル型陰イオン交換樹脂において使用される陰イオン交換基の種類としては、一級、二級、三級および四級のアミノ基を挙げることができ、特に三級および四級のアミノ基が好ましく使用される。

本発明のゲル型陰イオン交換樹脂の製造方法としては、アミノ基を有するビニル単量体と架橋剤とを常法により共重合するか、若しくは、アミノ基を導入可能な官能基を有するビニル単量体と架橋剤とを常法により共重合し、得られた共重合体にアミノ基を導入することにより製造することができる。

重合方法としては、懸濁重合法を好ましく採用することができる。

後者の方法の一例として、まず、ヒドロキシ基を有する架橋共重合体を製造する方法について述べ、次いで、ヒドロキシ基を有する架橋共重合体にアミノ基を導入する方法について詳細に説明する。

ヒドロキシ基を有するビニル単量体として

橋剤重量)としては、50~90%、好ましくは60~80%の範囲を挙げることができる。

架橋度がこの範囲より低い場合には、分離剤の硬さが十分でない為に、カラム充填の際圧密化が起り、該カラムを使用する際に送液圧が高くなりすぎて実用的ではない。また、架橋度がこの範囲より高い場合には、交換基を0.05 meq/g以上導入することが極めて困難であり、得られた分離剤の性能も極めて低いものとなる。

粒径は任意のものが用いられるが、微量分析用イオン交換クロマトグラフィー担体としては、粒子直径が1  $\mu\text{m}$  ~ 20  $\mu\text{m}$  の範囲で粒径のそろったものが良い。

一般に、粒径は小さい方がカラム段数が高い傾向にある。また本発明のゲル型樹脂の場合、その粒子表面の官能基のみが分離に寄与すると考えられるので、その点でも粒径の小さい方が好ましい。しかし、余り粒径が小さい場合には、実際に使用する際に送液圧力が高くなりすぎるという問題がある。

は、ヒドロキシエチルメタクリレート、グリセリンモノメタクリレート等が用いられる。

ヒドロキシ基に変えることのできるビニル単量体としては、酢酸ビニル、グリシジルメタクリレート等がある。

架橋剤としては、エチレングリコールジメタクリレート、ジエチレングリコールジメタクリレート、トリエチレングリコールジメタクリレート、トリメチロールプロパントリメタクリレート、グリセリンジメタクリレート等のポリビニル脂肪族単量体を挙げることができる。

他の架橋剤としては、トリアリルイソシアヌレートのようなヘテロ環を有するポリアリル単量体を挙げることができる。

上記架橋共重合体の具体例としては、架橋ポリヒドロキシエチルメタクリレート、架橋ポリビニルアルコール、架橋ポリグリセリンモノメタクリレートまたはその誘導体等を挙げることができる。

これら共重合体の架橋度(全モノマー中の架

前記のヒドロキシ基を有する架橋共重合体粒子に陰イオン交換基を導入する方法としては、アルカリ条件下でハロゲン化トリアルキルアミン塩を反応させる方法、または、ヒドロキシ基を3-ハロ-2-ヒドロキシプロピル基で置換したのち、アミノ化処理する方法等を挙げることができる。

導入された官能基の量、即ち交換容量の測定は実施例中の測定方法に従い測定するが0.05~0.5 meq/gの範囲にあることが好ましく、この範囲以上でも以下でも優れた分離性能を得ることはできない。

#### ~~〔実施例〕~~

以上本発明の方法によって製造されるアクリル系ゲル型陰イオン交換樹脂は、生体高分子(ポリヌクレオチド、ポリペプチド、蛋白質)の微量分析用に適したイオン交換クロマトグラフィー用担体である。

〔実施例〕

以下、本発明を実施例によって更に詳細に説

明する。

なお、実施例中の交換容量の測定は、次の方法により測定した。

#### 交換容量の測定方法

製造したゲル型陰イオン交換樹脂の湿潤品(2g以下)を三角フラスコに入れ、1N-NaOH 20 mlを加え室温にて、30分間振盪を行う。これを濾過した後、pH 10のNaOH水溶液で十分洗浄する。

次に、分離剤をビーカーに入れ、1% NaCl水溶液30 mlを入れ、攪拌しながら、 $5 \times 10^{-2}$  N-HCl水溶液を用い、滴下速度20  $\mu$ L/secで自動滴定装置(OT-05 三菱化成工業株式会社製造)にて、滴定曲線を作成する。次いで、分離剤全量を濾過し、水洗した後、温度50℃で3時間乾燥し、正確に秤量する。

横軸に滴下量、縦軸にpHで表わされる滴定曲線より、pH 8(第1変曲点)までの $5 \times 10^{-2}$  N-HCl水溶液の滴下量をM ml、ファクターをf、乾燥分離剤量をA gとし、分離剤の交換容

量を次式により求める。

$$\text{交換容量 (meq/g)} = \frac{M \times 0.05 \times f}{A}$$

#### 実施例1

常法の懸濁重合法にて、製造したグリセリンジメタクリレートとグリセリンモノメタクリレートとの共重合体(架橋度70%、粒子径8~12  $\mu$ m)50gを5N-NaOH水溶液100 ml中に投入し、室温にて、約60分間超音波分散および攪拌した。次いでこれに51%  $\beta$ -ジェチルアミノエチルクロライド塩酸塩水溶液14.3gを加え、50℃で3時間攪拌した。

反応物を濾過し、脱塩水にて洗浄し、次いで1N-HCl水溶液100 mlで洗浄後、十分水洗し、ジェチルアミノエチル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂を得た。

この樹脂の交換容量を測定したところ、0.1 meq/gであった。

#### 実施例2

##### (a) ヒドロキシル基への交換

常法の懸濁重合法にて製造したエチレングリコールジメタクリレートとグリシジルメタクリレートとの共重合体(架橋度70%、粒子径4~5  $\mu$ m)50gを2N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>水溶液250 ml中に投入し、攪拌下50℃で5時間反応させ、グリシジル基の開環を行った。

反応物を濾過し、脱塩水にて洗浄を行い、ヒドロキシル基をもつ架橋ポリグリセリンメタクリレート樹脂を得た。

##### (b) 官能基の導入

(a)で得られた樹脂10g(乾燥品)を5N-NaOH水溶液20 ml中に入れ、室温にて超音波分散および攪拌しながら、約60分間処理した後、51%  $\beta$ -ジェチルアミノエチルクロライド塩酸塩水溶液28.7gを加え、攪拌下50℃で3時間反応した。反応物を濾過し、脱塩水洗浄次いで1N-HCl水溶液20 ml洗浄後、十分水洗し、ジェチルアミノエチ

ル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂を得た。

本実施例で製造したイオン交換樹脂の交換容量は0.14 meq/gであった。

#### (応用例1)

実施例2で製造した分離剤を、ミオグロビン、卵アルブミン、トリブシンインヒビターの混合蛋白質のグラジエント溶離法によるイオン交換クロマトグラフィーを行った。

クロマトグラムを第1図に示した。カラム段数、分離度共に良好なクロマトグラムが得られた。

なお、グラジエント溶離法によるイオン交換クロマトグラフィー用装置は、島津LC6Aシステムを用いた。

溶離液Aには、14 mmol-トリスヒドロキシメチルアミノメタン・HClバッファー(pH 8.0)、溶離液Bには、溶離液Aに0.5 molの塩化ナトリウムを加え使用した。

溶離液AからBへのグラジエントとして、

20分間の直線グラジエントを行い分離した。分離液の流速は、1 ml/minであった。検出は紫外線 (UV 280 nm) により、吸光度測定を行った。

#### 実施例 3

実施例 2 (a) のエチレングリコールジメタクリレートとグリシジルメタクリレートとの共重合体の架橋度 60% 以外は、実施例 2 (a) および (b) に従い、ジエチルアミノエチル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂を得た。

得られた分離剤の交換容量は 0.3 meq/g であった。応用例 1 に従い分離剤の評価を行ったところ、カラム段数、分離度共に、応用例 1 と同等な結果であった。

#### 実施例 4

実施例 2 (a) のエチレングリコールジメタクリレートとグリシジルメタクリレートとの共重合体の架橋度 80% 以外は、実施例 2 (a) および (b) に従い、ジエチルアミノエチル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂を得た。

リメチルアミン水溶液 50 ml 中に入れ、攪拌しながら 50℃ で 5 時間反応した。冷却後、反応物を分別し、水洗した後、1N-HCl 水溶液 100 ml で洗浄し、十分水洗してトリメチルアミノ-2-ヒドロキシプロピル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂を得た。交換容量は 0.5 meq/g であった。

このトリメチルアミノ-2-ヒドロキシプロピル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂をクロマト評価したところ、カラム段数、分離度共に、ジエチルアミノエチル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂 (応用例 1) と同等であった。

#### 実施例 6

常法の懸濁重合法にて製造した、エチレングリコールジメタクリレートと2-ヒドロキシエチルメタクリレートとの共重合体 (架橋度 70%、粒子径 8~12 μm) 50g を、5N-NaOH 水溶液 200 ml 中に入れ、約 60 分間、室温にて超音波分散および攪拌した。次いで、これに

得られた分離剤の交換容量は、0.12 meq/g であった。このもののクロマト評価を行ったところ、カラム段数、分離度共に、応用例 1 と同等な結果であった。

#### 実施例 5

(a) 3-ハロー-2-ヒドロキシプロピル基の導入

実施例 2 (a) で得られた反応物 10g (乾燥品) を 0.2 mmol/ml エピクロロヒドリン・テトラヒドロフラン溶液 50 ml 中に入れ、次いで 97% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> をポリマー 1g 当り、0.2 mmol 加え、攪拌下 70℃ で 2 時間反応した。反応物を伊過・水洗し、次にメタノール洗浄した後、50℃ 3 時間乾燥した。

このものの 3-ハロー-2-ヒドロキシプロピル基導入量を元素分析により塩素原子の量を測定したところ、0.5 mmol/g であった。

(b) 3-ハロー-2-ヒドロキシプロピル基のアミノ化

(a) で得られた反応物 10g を 1 mmol/ml ト

74% β-ジエチルアミノエチルクロライド塩酸塩 19.6g を加え、50℃ で 6 時間攪拌した。

次いで、伊過し、脱塩水洗浄し、1N-HCl 水溶液 100 ml 洗浄後、十分水洗し、ジエチルアミノエチル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂を得た。交換容量は、0.1 meq/g であった。

#### 比較例 1

実施例 2 (a) で得られた架橋ポリグリセリンメタクリレート樹脂 10g (乾燥品) を、2N-NaOH 20 ml 中に入れ、60 分間、室温にて超音波分散および攪拌した。次いでこれに 8% β-ジエチルアミノエチルクロライド塩酸塩水溶液 10.9g を加え、50℃ で 3 時間攪拌した。次いで伊過・脱塩水洗浄し、更に 1N-HCl 水溶液 100 ml で洗浄後、十分洗浄し、ジエチルアミノエチル基を官能基とするアクリル系陰イオン交換樹脂を得た。

交換容量は、0.03 meq/g であった。

ジエチルアミノエチル基を官能基とするアク

リル系陰イオン交換樹脂のクロマト評価を行ったところ、交換容量が少ない為、良好なクロマトグラムが得られなかった。

#### 比較例 2

三菱化成工業株式会社より製造・販売されている、生体高分子分離用アクリル系多孔質陰イオン交換樹脂、商品名 MCI GEL CQA-3/B (官能基 ジエチルアミノ基、 $0.4 \text{ meq/g}$ 、細孔径  $1000 \text{ \AA}$ ) のバックドカラム (内径  $7.5 \text{ mm}$ 、長さ  $75 \text{ mm}$ ) を、応用例 1 と同様に溶離試験を行った。ただし、グラジエント時間を  $30 \text{ 分}$  とした。クロマトグラムを第 2 図に示す。

得られた各成分のメインピークの巾が広く、サブピークの分離も良好でなかった。

なお、グラジエント時間は、溶出時間を短くするが、各成分の分離性の向上には、寄与するものではない。

#### 〔発明の効果〕

本発明のアクリル系ゲル型陰イオン交換樹脂は、特定の架橋度、粒子直径および交換容量を

有するため、グラジエント溶離法によるイオン交換クロマトグラフィーにおいて、生体高分子 (蛋白質) の高感度、高分離能の分離分析用として有用である。

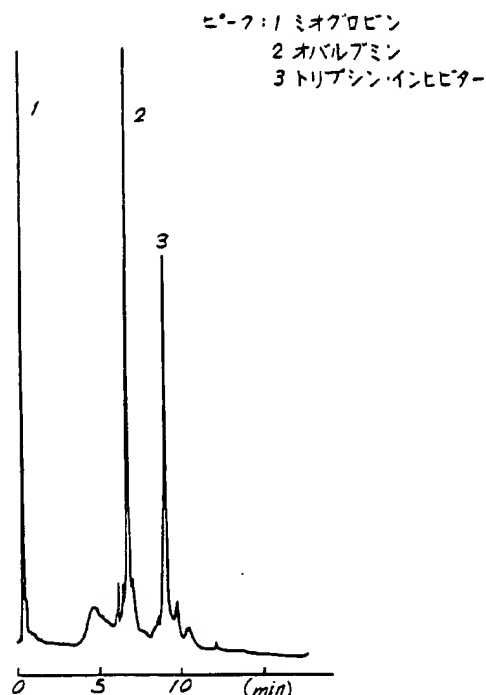
#### 4 図面の簡単な説明

第 1 図は、実施例 2 で製造した本発明のアクリル系ゲル型陰イオン交換樹脂を、応用例 1 に従い測定して得たクロマトグラムである。

第 2 図は、比較例 2 のアクリル系多孔質陰イオン交換樹脂を、応用例 1 に従い測定して得たクロマトグラムである。

出 願 人 三菱化成工業株式会社  
代 理 人 弁理士 長谷川 一  
(ほか 1 名)

第 1 図



第 2 図

